BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
2e Série — Tome 38 — N° 5, 1966, pp. 730-743.

RELATION ENTRE LA SENSIBILITÉ ÉLECTRORÉTINOGRAPHIQUE ET LE SPECTRE D'ABSORPTION DU PIGMENT VISUEL SCOTOPIQUE CHEZ LE POISSON ROUGE. NOMBRE MINIMUM DE QUANTA ABSORBÉS

Par Raymond CROUZY et Mohamed-Ather ALI

La compréhension des mécanismes fondamentaux de la vision ne pourra vraisemblablement être obtenue que par le rapprochement de la réponse visuelle (c'est-à-dire la sensation du sujet), dc l'étude biochimique des récepteurs et des investigations électrophysiologiques.

Mais la confrontation ne sera réellement concluante que le jour où l'on pourra obtenir par le calcul, le recoupement de résultats *quantitatifs*.

D'autre part, si les méthodes psychophysiques nous renseignent sur la sensation, leurs résultats ne sont vraiment précis qu'avec des sujets humains. En ce qui concerne les techniques électrophysiologiques et l'étude des pigments, il est plus facile — et souvent inévitable — d'opérer sur des animaux.

L'extrapolation de l'animal à l'homme et *vice-versa* sera souvent hasardeuse si l'on travaille à des niveaux lumineux élevés qui mettent en œuvre toute la complexité de l'organisation nerveuse, car celle-ci sera généralement différente d'un genre à l'autre. Par contre, si l'on demeure dans le domaine des très faibles stimulations, on n'aura affaire qu'aux phénomènes élémentaires du processus visuel et ceux-ci ont des chances d'obéir à un schéma commun pour une grande partie des vertébrés. En outre, les effets de saturation et d'interaction entre éléments nerveux devenant négligeables, on peut espérer rencontrer des lois simples, plus faciles à interpréter dans l'état actuel de nos connaissances.

C'est dans cet esprit que, faisant suite à une étude des seuils de luminance chez l'homme (Crouzy, 1963 et 1965) ce travail, portant à la fois sur l'absorption de la lumière par le pigment visuel et sur la réponse électrique de la rétinc à un faible stimulus lumineux, a été entrepris.

Principes généraux.

C'est le poisson rouge (*Carassius auratus*) qui a été choisi comme sujet. Il s'est révélé être un matériel commode et doué de bonnes performances. Il est facile de se le procurer et de le conserver et il fait preuve d'une exceptionnelle robustesse :

Ce poisson, dont la rétine présente des cônes de gros diamètre, a déjà été utilisé pour rechercher, à l'aide de microélectrodes, les pigments photopiques pouvant servir de base à la vision des couleurs.

Mais notre but était tout autre : désirant observer l'effet des très faibles lumières, notre étude devait porter sur les bâtonnets et nous devions opérer sur des rétines adaptées à l'obscurité (ce qui suppose naturellement que toutes les manipulations aient lieu en chambre noire).

La mesure du facteur d'absorption du pigment scotopique pour les différentes longueurs d'ondes du spectre visible fournit des valeurs relatives et il est classique de représenter les résultats par une courbe dont le maximum est, par convention, égal à 1.

En ce qui concerne la réponse électrorétinographique (en abrégé : E R G) on peut chercher les seuils pour différentes longueurs d'ondes et les exprimer d'après la même convention, ce qui permet la comparaison. Mais il nous a paru indispensable d'aller plus loin et de ne pas nous contenter de mesures relatives.

En effet, d'une part les lois qui régissent le comportement rétinien dépendent essentiellement du niveau lumineux auquel on opère : d'un domaine de luminance à l'autre, il peut y avoir non seulement passage de la vision photopique à la vision scotopique mais encore variation des limites de sommation de l'énergie dans l'espace et dans le temps, des inhibitions, du bruit de fond, etc., sans parler de la situation encore controversée, que l'on rencontre à l'approche du seuil absolu.

Aussi, une expérience dans laquelle la quantité d'énergie lumineuse mise en jeu n'est pas précisée n'apporte-t-elle qu'un renseignement incomplet.

Mais il y a plus grave : lorsqu'on désire rapprocher les chiffres obtenus par différents auteurs on s'aperçoit que dans la plupart des cas c'est une tâche impossible, faute de pouvoir rattacher les diverses mesures à une échelle commune.

Ainsi s'accumulent d'une façon stérile des résultats inexploitables par la suite car ils n'ont de signification que pour leur propre montage [1]. Et cependant, elle existe, cette échelle absolue ayant une valeur universelle pour analyser les réponses de l'appareil visuel dans tout le règne animal, et c'est le nombre de quanta absorbés par le pigment photosensible.

Déjà, en 1937, Dartnall et Goodeve utilisaient cette grandeur à propos du pigment humain. Plus récemment l'un de nous (Crouzy, 1963, p. 122) insistait sur la nécessité logique de la prendre pour base, bien que son usage semble avoir quelque difficulté à se répandre et Craig en 1964 développait un point de vue analogue en l'appliquant, avec raison, à l'ensemble des processus photobiologiques.

1. Pour regrettable qu'il soit, cet état de choses s'explique par deux considérations : d'une part la détermination directe de la quantité d'énergie rayonnée par une source dans une bande donnée de longueurs d'ondes est une mesure extrêmement délicate, surtout s'il s'agit d'une source faible ; d'autre part, l'évaluation de l'énergie à partir d'une égalisation visuelle, si elle est plus facile expérimentalement, entraîne, comme on le verra plus loin, à des calculs fastidieux par suite du choix arbitraire de la définition des unités lumineuses qui satisfait plus à des préoccupations techniques qu'au souci d'un choix rationnel.

De toute façon, la précision des mesures photométriques absolues reste médiocre.

En effet, à partir du moment où l'on admet que le phénomène qui est à l'origine de la perception visuelle est la modification photochimique d'une molécule de pigment, nous devons nécessairement admettre que (au moins en moyenne) des sensations égales correspondent à des nombres égaux de molécules décomposées.

Or, tout quantum tombant sur la rétine se trouve devant l'alternative ou de demeurer inaltéré et de n'avoir aucune action photochimique, ou de disparaître en provoquant la rupture d'un groupe chromophorique.

La seule grandeur physique qui ait un sens pour évaluer l'action de la lumière est donc bien le nombre de quanta absorbés par le pigment. Il en résulte en particulier (ce qui pourra heurter certaines habitudes de penser) que, à flux lumineux égal, lorsqu'on passe d'une longueur d'onde à une autre, l'énergie absorbée n'est pas la même : ce qui reste constant c'est le nombre de quanta absorbés.

En fait, le choix de cette grandeur présente encore un autre avantage : lorsqu'on s'intéresse aux très faibles énergies, il vient un moment où l'on ne peut plus ignorer, pour l'interprétation des faits, le caractère discontinu des échanges quantiques. Là encore on est conduit à adopter le nombre de quanta absorbés comme variables dans les calculs destinés à confronter les modèles mathématiques avec les résultats expérimentaux.

C'est pourquoi nous nous sommes attachés à obtenir, pour les plus faibles réponses ERG détectées, une évaluation absolue de la stimulation lumineuse et à exprimer celle-ci en terme de nombre de quanta absorbés par le pigment, même si ce chiffre doit être entaché d'une erreur relative importante.

A) **Courbe spectrale d'absorption du pigment scotopique.**

1. *Méthode.*

Nous avons adopté la méthode dite « par différence » (difference spectrum) : on mesure tout d'abord l'absorption de la rétine dans son état d'adaptation à l'obscurité, puis on l'expose à une lumière intense pendant plusieurs minutes afin de décolorer le pigment scotopique qui y était accumulé. L'absorption est alors mesurée à nouveau et la différence des deux valeurs correspond à la quantité de lumière qui était primitivement retenue par le pigment.

Par ce moyen on élimine toute cause d'erreur due à la présence de matières étrangères à la photoréaction ce qui permet d'opérer sur la

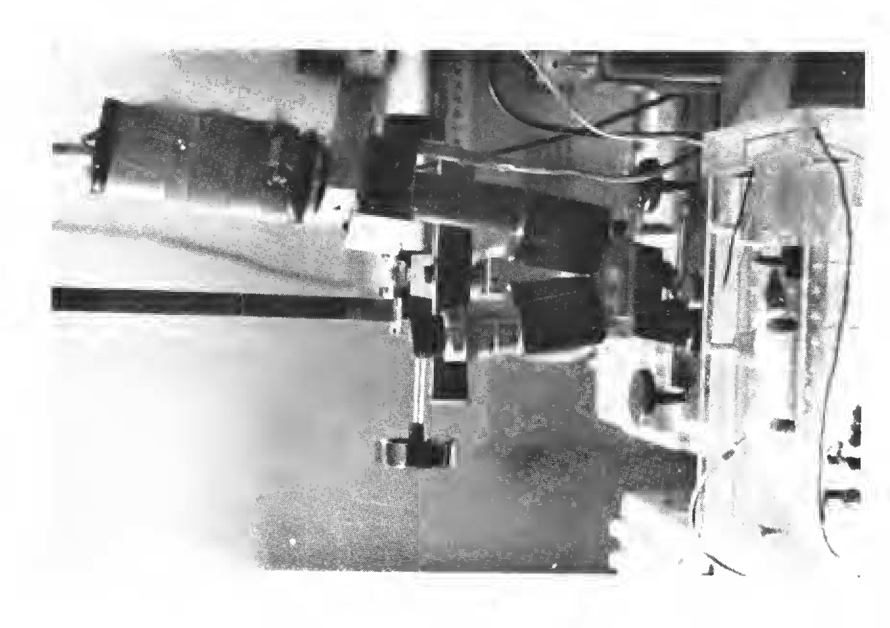
---

LÉGENDES DE LA PLANCHE I

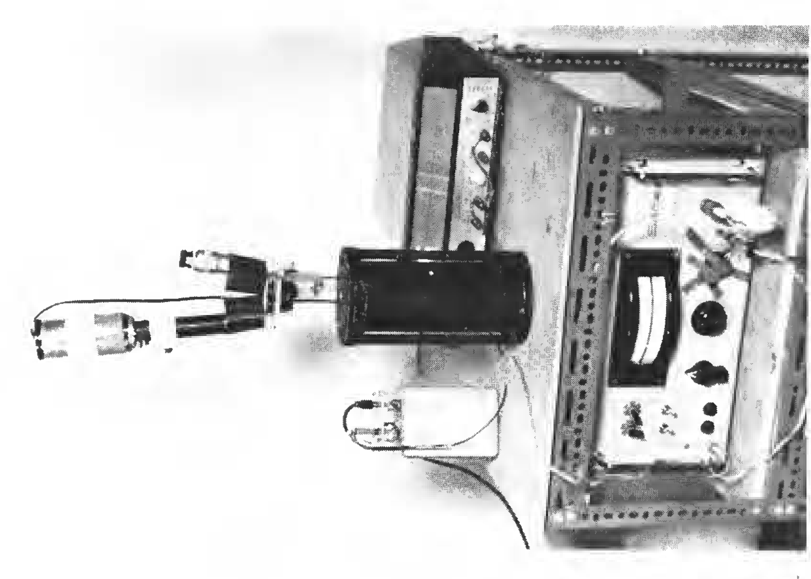
A. — Le cylindre noir contient le photomultiplicateur. Au centre de la platine on distingue la cupule transparente (constituée par un verre de contact). Elle est surmontée par le dispositif de stimulation (voir fig. 2).

A gauche du photomultiplicateur, l'alimentation stabilisée de la lampe, à droite le galvanomètre de lecture, sous la table l'alimentation du photomultiplicateur.

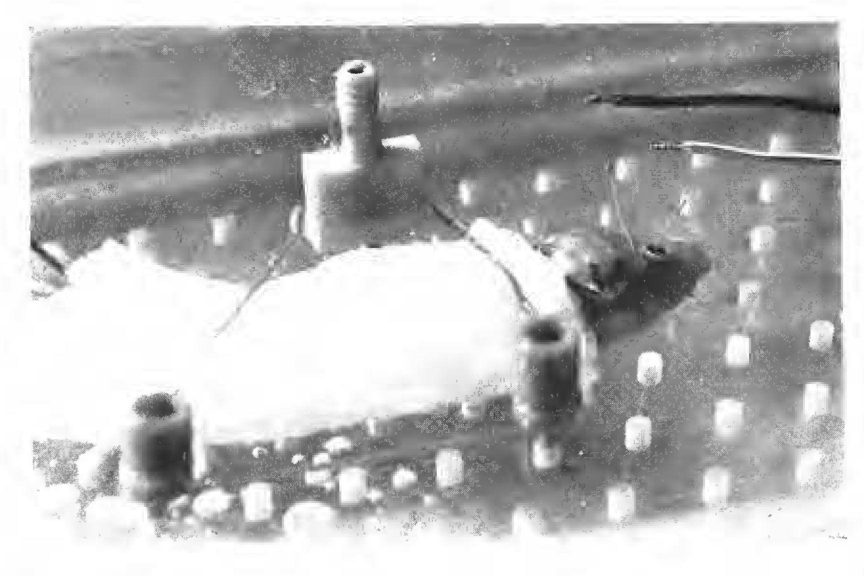
B. — Le même stimulateur en place au-dessus de l'œil du poisson pour l'étude des ERG.



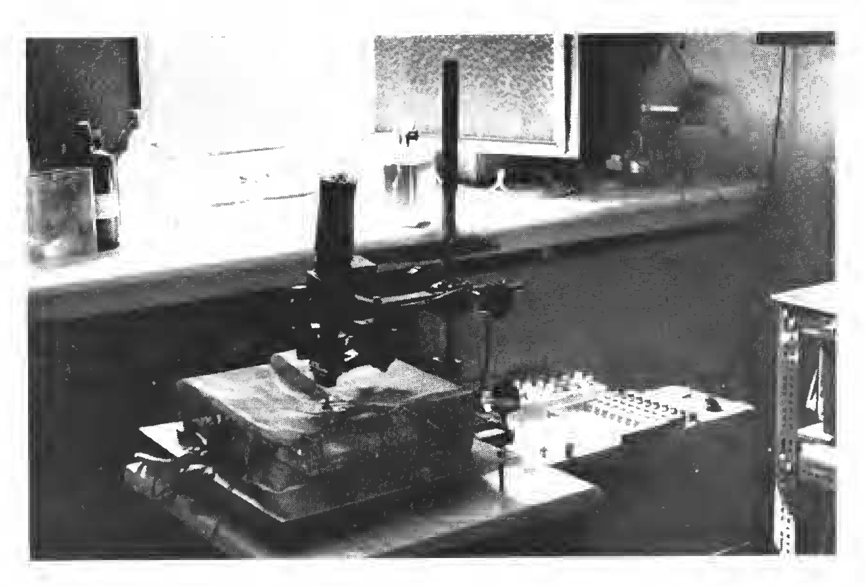
B



A



C



D

rétine même *in situ*, donc dans des conditions identiques à celles de la vision.

De plus, on peut atteindre directement la valeur absolue de la quantité de lumière utilisée pour la vision, tandis que la méthode qui consiste à extraire le pigment de la rétine et à mesurer l'absorption de la solution obtenue, outre qu'elle peut susciter certaines réserves, ne fournit que des valeurs spectrales relatives.

Il est vrai que la courbe obtenue par différence appelle une correction pour tenir compte de la présence des produits de décomposition du pigment.

Ceux-ci ayant une teinte jaune, c'est essentiellement du côté du bleu que les résultats sont altérés et, grâce à l'abondante documentation accumulée sur les pigments des poissons, Dartnall et Lythgoe (1965) ont pu mettre au point une abaque qui permet de déterminer la position correcte du maximum en se basant uniquement sur la moitié de courbe concernant les grandes longueurs d'onde. Une fois connue la longueur d'onde pour laquelle ce maximum est atteint, il est facile de rétablir dans sa totalité la courbe d'absorption réelle à l'aide d'une autre abaque (Dartnall, 1962, p. 380) fondée sur le fait que, rapportés à une échelle linéaire de fréquences, les spectres par différence de tous les pigments sont semblables et ne diffèrent entre eux que par la position de leur maximum.

2. *Technique expérimentale.*

Les mesures de flux sont faites à l'aide d'un photomultiplicateur à 14 dynodes dont la cathode possède la réponse S-20 qui couvre tout le visible (bruit de fond 10^{-12} lumens à 25° C). Ce tube est alimenté par un générateur stabilisé 3.000 Volts, 10 mA et il débite sur un galvanomètre immergé permettant de lire 10^{-9} Ampères. Il est placé verticalement dans un boîtier métallique étanche à la lumière qui porte, juste au-dessus de la cathode, une capsule transparente. (Voir planche, fig. A).

Après que le poisson ait séjourné dans l'obscurité pendant plus de 1 heure, on procède à l'énucléation de l'œil sous un éclairage rouge aussi faible que possible et on le place dans la capsule qui contient quelques gouttes de solution de Ringer. La pupille, une fois centrée, peut alors recevoir un faisceau de lumière dirigée, stable et monochromatique qui est fourni par le même générateur de stimulations lumineuses utilisé pour l'ERG et dont la description sera donnée au paragraphe C.

LÉGENDES DE LA PLANCHE II

C. — Position des électrodes sur l'œil du poisson. (Ici l'électrode de référence est placée au bord de l'orbite).

D. — Ensemble du dispositif pour l'enregistrement des ERG. La cuve est recouverte de son grillage de protection dans lequel une fenêtre est découpée au-dessus de l'œil du poisson.

Le stimulateur est monté sur un support à crémaillères réglable dans les 3 directions pour permettre à la fois la mise au point et le centrage sur la pupille.

Sur la droite, les blocs d'amplification et d'inscription.

Grâce à la sensibilité de la détection, il est possible d'opérer avec de très petites quantités de lumière, donc sans désadapter la rétine.

Ajoutons qu'afin d'éviter un échauffement des tissus, la vive lumière blanche qui sert à décolorer la rétinc ne tombe sur l'œil qu'après réflexion sur un « miroir froid » qui réfléchit bien le visible mais laisse traverser l'infra-rouge.

3. *Résultats.*

Cette méthode a donné de bons résultats avec la truite albinos (Crouzy et Ali, 1965), les mesures étant faites à travers le globe oculaire tout entier.

Avec un poisson non albinos, l'utilisation de cette technique est malaisée : en effet la présence de la couche de pigment épithélial noir rend la rétine opaque. Il est alors nécessaire de découper une fenêtre dans la partie postérieure de la sclérotique et de détacher cet épithélium pigmentaire de la couche des récepteurs sans léser celle-ci.

L'opération est rendue encore plus délicate par l'éclairage déficient et le pourcentage de réussites est faible. Même dans les meilleurs cas, on ne peut être certain de n'avoir pas arraché partiellement la couche de bâtonnets. Ceci ne fait pas obstalce à la détermination du facteur d'absorption relatif, mais s'il s'agit de l'absorption absolue la méthode semble peu sûre. Aussi, lorsque nous avons eu besoin de la valeur véritable de la quantité de lumière absorbée (pour la détcrmination du nombre de quanta agissant sur le pigment) nous avons jugé préférablc d'adopter le chiffre trouvé pour la truite albinos, les deux types de rétine devant être assez voisins.

En ce qui concerne le spectre d'absorption, nous avons trouvé, après correction des mesures brutes d'après l'abaque de Dartnall et Lythgoe, qu'il atteint son maximum pour $\lambda = 512$ nm, ce qui conduit à la courbe représentée fig. 1.

B) **Réponse ERG — Sensibilité spectrale.**

1. *Méthode.*

L'expérience porte sur un poisson anesthésié et adapté à l'obscurité. Sa rétine est stimulée par des éclairs monochromatiques dont la durée et le flux sont réglés de façon à obtenir une réponse juste détectable. Dans ces conditions, la réponse se réduit à une petite onde b. La difficulté d'obtenir un ensemble cohérent de mesures réside dans le caractère capricieux des réponses : tout d'abord, la sensibilité décroît très rapidement (au delà d'une quinzaine de minutes, on n'obtient plus de réponse exploitable), or il est nécessaire de respecter des temps de repos entre les stimulations, en sorte que chaque séance ne fournit qu'un nombre de réponses limité. D'autre part, cette sensibilité est extrêmement variable d'une séance à l'autre (parfois dans le rapport de 1 à 50) pour des raisons qui

peuvent tenir soit au sujet lui-même soit à la manière dont on a réussi la mise en place des électrodes. Il faut ajouter à cela les déflections parasites d'origines diverses qui peuvent rendre l'enregistrement illisible : bruit de fond purement électrique ou réactions animales telles que rythmes physiologiques (pulsations, etc.), réflexe buccal réapparaissant de façon intermittente, contractions diverses.

On comprend que dans ces conditions il ne reste en définitive que peu d'enregistrements vraiment satisfaisants et qu'à moins de pouvoir accumuler un nombre d'essais considérable il ne saurait être question ici d'appliquer les méthodes statistiques en usage dans les études de seuils. Le mieux est donc de se baser sur les quelques « bons » enregistrements que l'on a pu obtenir. Nous entendons par là ceux où l'on trouve à la fois la sensibilité et la reproductibilité des réponses (ces deux qualités vont généralement de pair) et qui de plus sont exempts de perturbations.

Les réponses obtenues avec le filtre 555 nm, qui étaient les plus fortes, ont été prises pour base et à chaque séance un filtre différent était comparé au filtre 555 nm, c'est-à-dire que l'on faisait alterner les stimulations avec l'un et avec l'autre en augmentant progressivement la durée des éclairs (les échelons intermédiaires étant réalisés, en cas de besoin, par interposition de densités neutres) jusqu'à ce qu'on ait obtenu avec les deux filtres des réponses identiques (mais toujours de très faible amplitude).

2. *Technique expérimentale.*

Elle est analogue à celle déjà employée et décrite par l'un de nous (Ali, 1964-Hanyu et Ali, 1964), c'est-à-dire qu'après anesthésie dans une solution de MS-222 à 1/10.000, le poisson, enveloppé de gaze, est placé dans une cuve contenant une solution de MS 222 à 1/20.000, l'œil restant émergé. Il est immobilisé par des bracelets de caoutchouc.

Une ponction dans la cornée permet d'introduire l'extrémité de l'électrode active dans la chambre antérieure, l'électrode de référence étant placée par tâtonnement au point qui donne le minimum de bruit de fond.

Les électrodes sont des fils d'argent chlorurés.

Naturellement toutes ces opérations sont faites sous un éclairage rouge foncé très réduit.

Nos mesures exigeaient un organe de sortie à performances élevées. Nous avons employé un électroencéphalographe à plumes dont 2 voies seulement sont utilisées : une pour l'inscription des réponses et une pour le marquage de l'éclair. La sensibilité est d'environ 2 microvolts par mm et le bruit de fond de 2 microvolts dans de bonnes conditions. Bien entendu, tout ce qui est relié à l'enregistreur est protégé par une cage, y compris la cuve et la photodiode qui transmet le signal lumineux. Pour éviter toute influence électrique sur le phénomène, l'éclair est donné par un déclencheur à retardement.

3. *Résultats.*

Nous avons pu déterminer ainsi la sensibilité pour les longueurs d'ondes 467 nm, 501 nm, 577 nm et 594 nm par rapport à la valeur (arbitraire) de la sensibilité pour 555 nm.

Si l'on porte ces valeurs sur la courbe d'absorption du pigment (fig. 1) en donnant à la sensibilité pour 555 la valeur 0,585 (qui est l'ordonnée de la courbe en ce point), on voit que les points 467, 501 et 577 nm se placent avec une surprenante précision sur la courbe d'absorption. Le point 594 nm, par contre, se trouve franchement au-dessus. Il convient de remarquer que, dans cette région, les mesures étaient particulièrement difficiles en raison de la chute de sensibilité et il ne serait pas surprenant que pour le point en question elles se soient trouvées affectées d'une forte erreur. Il ne serait pas impossible toutefois qu'il existe une divergence réelle aux deux extrémités du spectre, des résultats de ce genre paraissant exister chez le rat. C'est un point que nous ne sommes pas en mesure de trancher pour le moment.

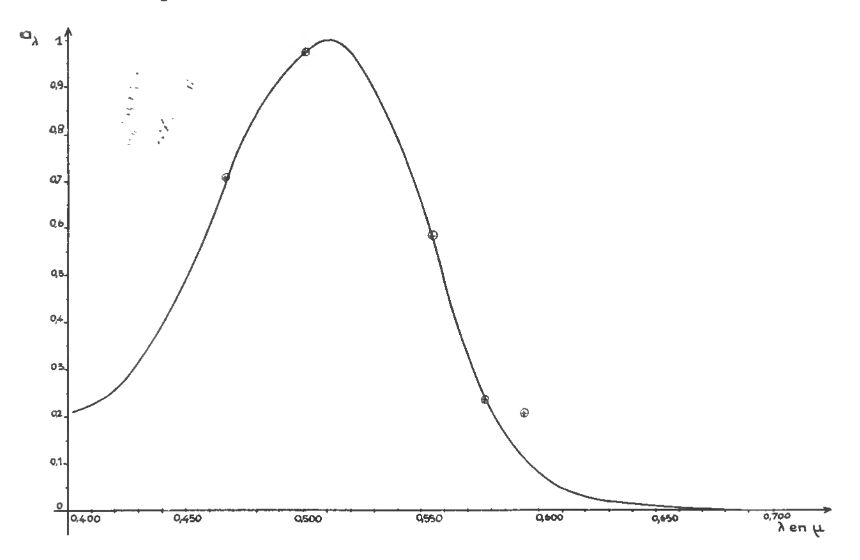


Fig. 1. — Courbe spectrale du facteur d'absorption du pigment scotopique, en valeurs relatives. (Son maximum a été pris arbitrairement pour unité).

On a superposé à la courbe les points représentant, avec la même convention, les valeurs de la sensibilité relative ERG pour les longueurs d'ondes 467, 501, 555, 577 et 594 nanomètres.

C) Stimulation — Étalonnage absolu.

1. *Méthode.*

Si l'on désire calibrer la quantité de lumière reçue par la rétine, il faut que celle-ci soit indépendante des variations individuelles, et en particu-

lier du diamètre pupillaire du poisson. C'est pourquoi nous avons adopté un montage en lumière dirigée (Maxwellian view), c'est-à-dire qu'un faisceau étroit forme dans le plan de la pupille l'image d'une petite source circulaire, plus petite que la pupille la plus étroite.

Il faut en outre que cette image puisse être centrée sur l'ouverture pupillaire et ceci en l'absence du faisceau lumineux et dans les conditions difficiles d'éclairage ambiant que l'on sait. Enfin un certain dégagement au-dessus de l'œil du poisson était indispensable à cause des électrodes.

L'emploi d'un microscope stéréoscopique à faible grossissement a apporté une solution à ce problème (fig. 2) : les axes des deux tubes convergeant par construction en un point P, il suffit d'employer l'un des tubes pour projeter l'image de la source dans le plan de front passant par P, tandis que l'autre tube, qui sert pour l'observation, est au point dans le même plan.

Cela suppose une double conjugaison, il est donc nécessaire de pouvoir régler séparément la position de l'image et le tirage du tube d'observation. Les réglages une fois faits, il suffira d'amener la pupille du poisson au centre du champ (repéré par un réticule) pour être sûr que la totalité du faisceau pénètrera dans l'œil.

Le dispositif doit encore comporter, outre une source primaire stable, un obturateur à temps de pose réglable, la possibilité de filtrer la lumière et une cellule transmettant à l'enregistreur, sans retard appréciable, le début et la fin de l'éclairement rétinien.

2. *Réalisation.*

La figure 2 donne le schéma de principe du montage.

Une lampe de minc (6 V ; 5 A) est montée sur un capuchon fileté. Elle est alimentée en courant continu stabilisé à 10^{-3}.

La source effective est constituée par la partie du verre opale visible à travers le trou du diaphragme. Elle se trouve au foyer d'un objectif photographique, ce qui satisfait à la condition géométrique puisque le point P est conjugué de l'infini à travers l'optique du microscope. La distance frontale de l'image est de 75 mm.

Dans la partie du faisceau où la lumière est parallèle, se trouve une boîte à filtres à 3 étages qui permet d'interposer des filtres interférentiels (largeur de bande : 155 nm) et, si nécessaire, des filtres neutres.

Une lame à 45° partiellement réfléchissante renvoie une partie de la lumière sur un photodiode. Celle-ci donne sur l'enregistrement une déviation vers le haut pour l'allumage et vers le bas pour l'extinction, mais un bref éclair n'est marqué que par une étroite impulsion vers le haut.

La vitesse de déroulement du papier est de 15 mm par seconde. Constante de temps de l'amplificateur : 0,7 seconde, bande passante de l'inscripteur : 80 Hz (linéarité : ± 15 mm).

3. *Étalonnage en énergie.*

Les calculs exigés par ce genre d'opération ont déjà été indiqués (Crouzy, 1963, pp. 121 à 125), néanmoins nous les redonnerons ici avec quelque détail car ce type de problème est rencontré fréquemment.

Le but final est de déterminer le nombre de quanta lumineux absorbés par le pigment visuel au cours de l'éclair. La lumière étant sensiblement monochromatique, ce nombre sera connu dès que l'on connaîtra l'énergie absorbée par le pigment.

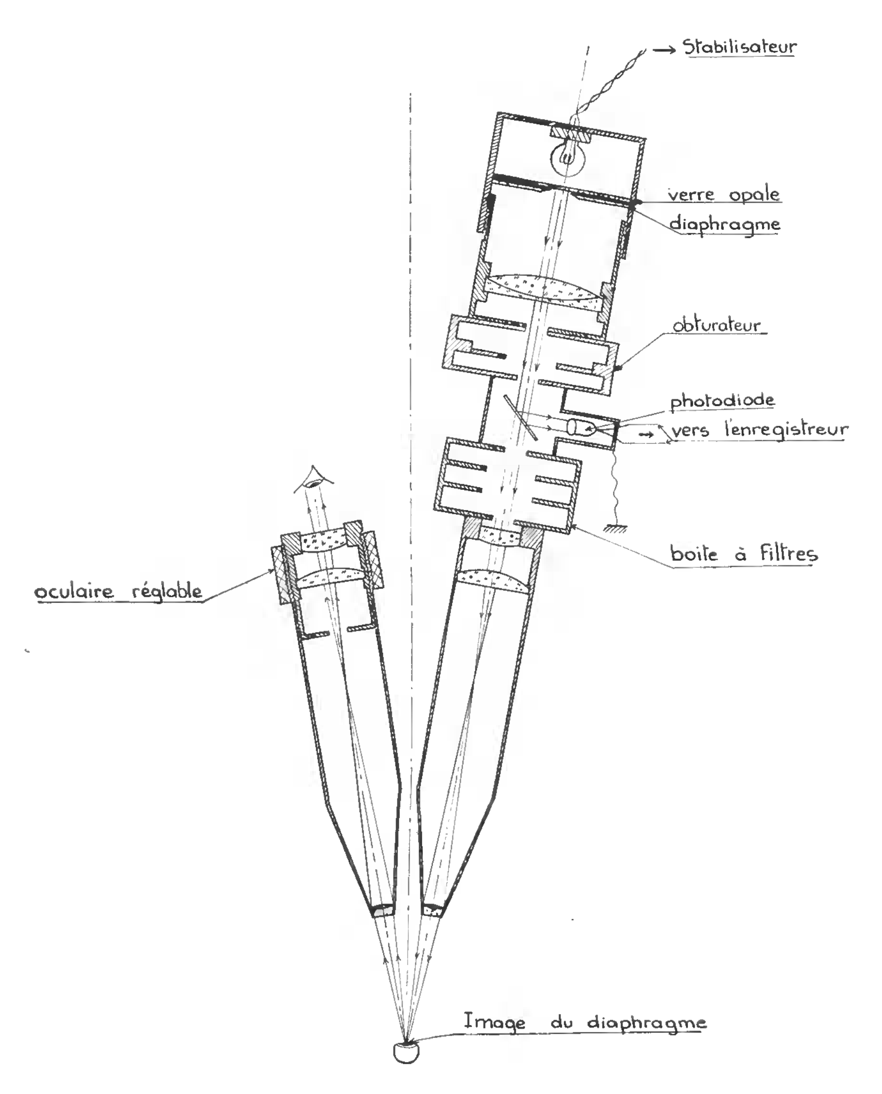


Fig. 2. — Schéma de principe du dispositif de stimulation lumineuse.

L'étalonnage photométrique, tant pour la luminance que pour la température de couleur, a porté sur la petite image réelle fournie par le microscope.

Pour cela, il faut connaître :

1° — le facteur d'absorption relatif a(λ) pour la radiation considérée (on lira sa valeur sur la courbe de la fig. 1),

2° — la valeur vraie du maximum de cette absorption, arbitrairement représentée par l'unité. Nous avons dit que, faute de mieux, nous adopterions la valeur 0,292 antérieurement trouvée pour la truite albinos,

3° — la quantité d'énergie tombant sur la rétine. Celle-ci se déduira de la quantité d'énergie qui tombe sur la cornée en tenant compte du facteur de transmission des milieux oculaires. Là encore, nous prendrons la valeur trouvée sur la truite albinos dont l'œil est de la même grosseur (il s'agit dans les deux cas de l'œil à sec). On peut voir sur la courbe (Crouzy et Ali, 1965, fig. 2) que, dans la région centrale du spectre, la densité optique est sensiblement 0,165, soit un facteur de transmission de 0,683.

Il reste maintenant à déterminer l'énergie reçue par la pupille d'entrée de l'œil. D'après ce que nous avons dit au début du paragraphe 1, elle se déduira, compte tenu de la durée de l'éclair, du flux énergétique enfermé dans le faisceau qui sort du stimulateur, le filtre interférentiel étant en place.

En principe, il est possible d'effectuer directement la détermination de l'énergie ainsi rayonnée, mais nous n'avons pu obtenir qu'une telle mesure soit faite avec une source aussi faible que la nôtre.

Nous avons donc dû recourir à un repèrage visuel en lumière blanche, à l'aide d'un luminancemètre.

Le problème que nous avons à résoudre est alors le suivant : quelle est, *en valeur absolue*, la répartition spectrale de l'énergie fournie par le stimulateur en l'absence de filtre coloré ?

Une fois cette fonction connue, nous pourrons déterminer l'énergie fournie avec chacun des filtres puisque leurs courbes d'absorption sont données par le constructeur.

Les deux caractéristiques qui ont pu être mesurées pour définir notre source blanche sont les suivantes :

— la petite image projetée sur la pupille a une luminance de 110 nits (à ± 10 % près) ;

— sa température de couleur est de 2580° K.

Tout d'abord, au degré de précision que comportent de telles mesures, nous pouvons sans inconvénient assimiler le rayonnement du filament de tungstène à celui d'un corps noir à la température de 2580° K.

Les tables de constantes concernant la radiométrie du corps noir donnent, pour la température en question, les valeurs du rapport $\frac{W_\lambda}{W_{max}}$ W_λ est la densité spectrale d'énergie pour la longueur d'onde λ et W_{max} est la valeur maximale atteinte par W_λ, paramètre qui caractérise la puissance de la source considérée.

Il est donc possible de tracer, *en valeurs relatives*, la courbe d'émission énergétique, mais il reste à déterminer l'échelle qui transformera les ordon-

nées en valeurs absolues, c'est-à-dire à trouver la valeur du facteur W_{max}

Nous y parviendrons en écrivant que notre source a une luminance de 110 nits pour la rétine humaine en vision photopique (une centaine de nits se situe franchement dans le domaine photopique).

V (λ) étant le facteur d'efficacité lumineuse relative [1] de la radiation λ, on aura d'après la définition même de la luminance (Le Grand, 1948) :

$$K_m \int V(\lambda).\ W_\lambda\ d\lambda = 110 \text{ nits}$$

d'où :

$$W_{max} = \frac{110}{K_m \int V(\lambda) \frac{W_\lambda}{W_{max}} d\lambda}$$

On est donc amené à construire la courbe

$$V(\lambda) \frac{W_\lambda}{W_{max}} = f(\lambda)$$

et à en prendre l'intégrale. En faisant Km = 679, W_{max} sera exprimé en Watts par m^2, par stéradian et par micron.

Nous pouvons donc connaître maintenant la densité spectrale de brillance énergétique W_λ de notre source blanche. Après interposition d'un filtre dont le facteur de transmission est τ (λ), la brillance totale de la petite image sera :

$$b(\lambda) = \int \tau(\lambda).\ W_\lambda.\ d\lambda$$

Il nous reste, à partir de cette brillance, à calculer le flux énergétique qui tombe sur la pupille, sachant que :

1° — l'image a un diamètre de 2 mm, soit une surface

$$s = 3{,}46.\ 10^{-6}\ m^2$$

2° — l'ouverture du faisceau est de 6° 24′ ou 0,112 radians, soit un angle solide :

$$\Omega = 0{,}98.\ 10^{-2} \text{ stéradians}$$

Le flux du faisceau est donc, en Watts :

$$\Phi(\lambda) = b(\lambda).\ s.\ \Omega = 3{,}395.\ 10^{-8}\ b(\lambda)$$

Nous devons maintenant tenir compte des données physiologiques pour déterminer la fraction de ce flux qui est effectivement utilisée pour la vision.

C'est seulement 0,683. Φ (λ) qui atteindra la rétine et, de cette quantité, 0,292 seront retenus par le pigment pour la radiation la plus absorbée. Pour toute autre longueur d'onde, le flux d'énergic utile sera, en watts :

$$\varphi(\lambda) = 6{,}75\ .\ 10^{-9}\ a(\lambda)\ .\ b(\lambda)$$

1. **La notation V (λ) au lieu de V_λ est conforme au projet de propositions ISO/TC 12 de février 1963, cette grandeur étant une fonction de λ et non une densité spectrale comme W_λ.**

(En toute rigieur, il aurait fallu faire $\int a(\lambda).\ \tau(\lambda).\ W_\lambda\ d\lambda$, mais les filtres ont des bandes assez étroites pour que l'on prenne pour l'ensemble la valeur de a (λ) qui se rapporte au maximum).

4. *Nombre minimum de quanta absorbés.*

La figure 3 est la reproduction des 2 meilleures réponses obtenues. La première correspond à la longueur d'onde 555 nm. Le papier défilant de droite à gauche, on voit sur la trace inférieure le petit trait vertical qui marque l'instant de l'éclair. Sur la trace supérieure où s'enregistre l'ERG, une petite onde apparaît avec un retard d'environ une petite division, soit 0,2 seconde.

L'amplitude n'est que de 2,5 à 3 microvolts. Elle s'apprécie mieux si l'on matérialise la ligne de base par un fil tendu ou le bord d'une règle.

Cette réponse a été obtenue avec un éclair de 1/500 de seconde. Le flux correspondant au filtre 555 est de $4.23\ .10^{-4}$ ergs par seconde. L'énergie fournie par l'éclair est donc :

$$E = 8{,}46.\ 10^{-7} \text{ ergs}$$

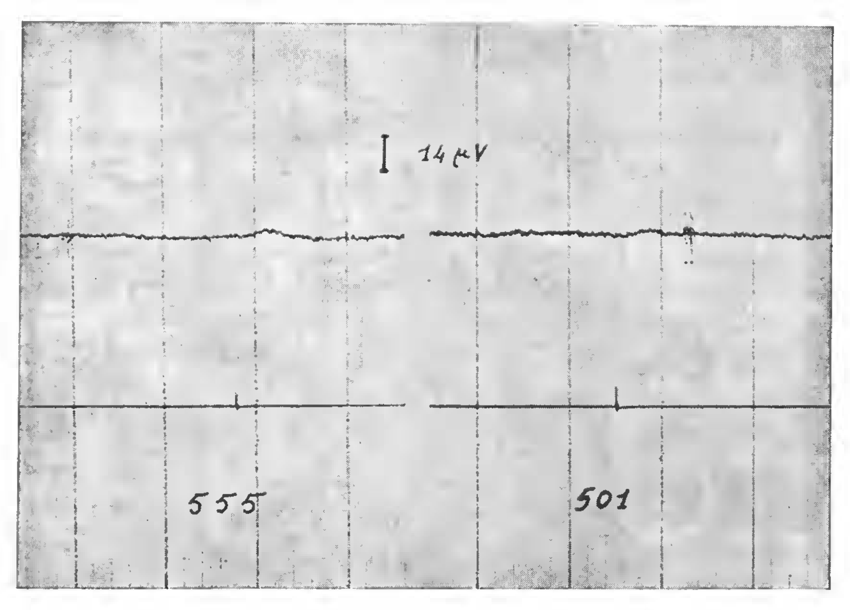


Fig. 3. — Enregistrement de deux réponses à la limite de sensibilité de notre montage (traces supérieures). L'axe des temps est dirigé de gauche à droite. Une petite division du papier représente 0,2 secondes.

ce qui représente un nombre de quanta absorbés :

$$N = \frac{E}{h\nu} = 8{,}47.10^{-7}\ \frac{1{,}986}{0{,}555}\ 10^{12}$$

soit $N = 2{,}37.10^{5}$

Pour la réponse obtenue avec le filtre 501, un calcul analogue conduit au chiffre de :

$$N = 2{,}17 . 10^5$$

quanta absorbés.

Précisons qu'il s'agit du nombre d'absorptions ayant eu pour conséquence finale la décoloration du pigment, c'est-à-dire que N tient compte de l'efficacité quantique de cette réaction, dans le cas où elle serait inférieure à 1.

En résumé, on a déterminé le facteur d'absorption relatif du pigment scotopique du poisson rouge, toutes corrections faites, dans le spectre visible.

On a mesure également la sensibilité relative de la réponse électro-rétinographique scotopique pour 5 longueurs d'ondes.

Le rapprochement de ces résultats semble indiquer un lien étroit entre ces deux phénomènes, sauf peut-être aux extrémités du spectre.

Enfin, dans les conditions expérimentales utilisées, une réponse de près de 3 microvolts peut être fournie par l'absorption de 230.000 quanta, environ, par les molécules du pigment visuel.

Il est probable que de nouvelles séries de mesures, entreprises avec des moyens plus importants (nombre de poissons plus élevé, technique plus élaborée, moyens d'enregistrement plus puissants) permettraient de préciser ces résultats et de déceler un seuil quantique plus bas.

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Physique appliquée du Muséum grâce à l'aide financière de la Division des Affaires scientifiques de l'Organisation du Traité de l'Atlantique Nord (Nato Research Grant N° 206).

Nous sommes particulièrement reconnaissants au Dr Hans Helms, Directeur du Bureau de Science pure, de son appui bienveillant.

Nous devons également de vifs remerciements à Monsieur le Professeur Fontaine, Directeur du Muséum National d'Histoire Naturelle, pour les facilités qu'il a bien voulu nous accorder dans son Laboratoire, ainsi qu'à Monsieur Y. Galifret, Directeur de Laboratoire au Collège de France, qui a aimablement mis à notre disposition l'électroencéphalographe sans lequel nous n'aurions pu enregistrer les ERG.

L'étalonnage a été possible grâce à l'obligeance de Monsieur Debure, Directeur du Département de Photométrie au Laboratoire National d'Essais, de Messieurs Vulmière et Slucki, Chefs de Laboratoires à l'Institut d'Optique, qui ont bien voulu déterminer les caractéristiques de notre source.

Enfin, la collaboration de Madame Barollet en ce qui concerne la partie électronique, celle de Madame Bertrand pour l'exécution des calculs et des graphiques et celle de Monsieur Rainasse pour la réalisation des montages mécaniques nous ont été précieuses.

Laboratoire de Physique appliquée du Muséum,
43, rue Cuvier, Paris (5e)
et Département de Biologie, Université de Montréal
Case postale 6128, Montreal, Canada.

ABSTRACT

The relative absorption factor of the scotopic pigment of the goldfish *(Carassius auratus)* has bcen determinated, all adjustments made, for the visible spectrum.
The relative sensitivity for the scotopic electroretinographic response has been also measured for 5 wavelengths.
The comparing of those results points to a close connection between the two phenomena, except, possibly, at both ends of thc spectrum.
Lastly, with the experimental conditions adopted, a response close to 3 microvolts can be elicited by the absorption of about 230.000 quantas by the molecules of visual pigment.

BIBLIOGRAPHIE

Ali (M.-A.), 1964. — Quelques aspects de la physiologie de la vision du saumon *(Salmo salar)*. *Actualités Marines* (Québec), **8**, N° 1, pp. 21-30.

Craig (R. E.), 1964. — Radiation Measurement in Photobiology — Choice of Units. *Photochemistry and Photobiology,* **3**, N° 3, pp. 189-194.

Crouzy (R.), 1963. — La structure quantique dc la lumière et la sensibilité différentielle de l'appareil visuel considéré comme un détecteur de signaux. *Thèse* (Fac. des Sciences, Paris).

— 1965. — Sur la possibilité d'appliquer la théorie dc la détectabilité d'un signal au calcul de certaines fonctions psychométriques. *C. R. Acad. Sci.* (Paris), **260**, N° 6, pp. 1773-1776.

— et Ali (M. A.), 1965. — Données photométriques spectrales sur l'œil de la truite albinos et sur son pigment scotopique. *Ibid.*, **261**, N° 21, pp. 4509-4512.

Dartnall (H. J. A.), 1962. — The Identity and Distribution of Visual Pigments in the Animal Kingdom. *In* : Davson (H.), *The Eye,* Vol. **2** (Londres, Acad. Pr. 1962).

— et Goodeve (C. F.), 1937. — Scotopic Luminosity Curve and the Absorption Spectrum of Visual Purple. *Nature,* **139**, N° 3514, pp. 409-411.

— et Lythgoe (J. N.), 1965. — The spectral clustering of visual pigments. *Vision Research,* **5**, N° Avril, pp. 81-100.

Hanyu (I.) et Ali (M. A.), 1964. — Electroretinogram and its Flicker Fusion Frequency at Different Temperatures in Light adapted Salmon *(Salmo salar)*. *J. Cel. Comp. Physiol.*, **63**, N° 3, pp. 309-321.

Le Grand (Y.), 1948. — Optique Physiologique. Tome **2** « Lumière et couleurs » (Paris, Éd. de la Rev. d'Opt.).